



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102947768 B

(45) 授权公告日 2016. 05. 18

(21) 申请号 201180030718. X

代理人 孔青 李浩

(22) 申请日 2011. 05. 05

(51) Int. Cl.

(30) 优先权数据

1050668-1 2010. 06. 23 SE

G05D 11/08(2006. 01)

B01F 15/04(2006. 01)

G01N 30/34(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2012. 12. 21

G01N 30/88(2006. 01)

G05D 11/13(2006. 01)

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/SE2011/050563 2011. 05. 05

(56) 对比文件

US 6221250 B1, 2001. 04. 24,

US 6221250 B1, 2001. 04. 24,

US 2008279038 A1, 2008. 11. 13,

WO 2005025726 A2, 2005. 03. 24,

US 3712513 A, 1973. 01. 23,

WO 2009131524 A1, 2009. 10. 29,

(87) PCT国际申请的公布数据

W02011/162666 EN 2011. 12. 29

(73) 专利权人 通用电气健康护理生物科学股份  
公司

地址 瑞典乌普萨拉

审查员 仲莉

(72) 发明人 C. 安德烈 M. 伯格 T. 布兰克

E. 卡雷达诺 K. 埃克斯特伦

T.M. 卡尔森 J-E. 林加

R. 诺德伯格 G. 罗德里戈

H. 桑德格伦

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公  
司 72001

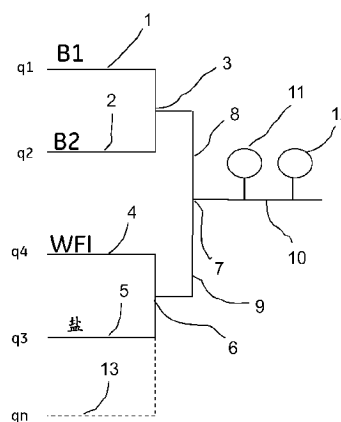
权利要求书3页 说明书13页 附图3页

(54) 发明名称

制备液体混合物的方法

(57) 摘要

一种制备具有预定特性(包括预定值的第一性质和预定值的第二性质)的混合液体流的方法,所述方法包括以下步骤:a)提供第一组至少一种各自具有不同的第一值的第一性质的液体流;b)提供第二组至少一种各自具有不同的第二值的第一性质的液体流;c)提供第三组至少一种溶剂的液体流;d)将提供的液体流合并;和e)改变第一和第二组的液体流中的至少一种和第三组液体流的至少一种,以在所得到的混合液体流中将第一性质和第二性质调节至其各自的预定值。



1. 一种制备具有预定特性的混合液体流的方法,所述预定特性包括预定值的第一性质和预定值的第二性质,所述方法包括以下步骤:

- a) 提供第一组至少一种各自具有不同的第一值的第一性质的液体流;
- b) 提供第二组至少一种各自具有不同的第二值的第一性质的液体流;
- c) 提供第三组至少一种溶剂的液体流;
- d) 将提供的液体流合并;和
- e) 改变所述第一和第二组的液体流中的至少一种和所述第三组的至少一种液体流,以在所得到的混合液体流中将第一性质和第二性质调节至其各自的预定值;

其中所述方法包括测量所述混合液体流的性质,同时改变不同的液体流,以将所述性质调节至其预定值,测定所需的液体流,随后通过流反馈控制不同的液体流。

2. 根据权利要求1所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其中所述第一和第二性质选自pH、电导率、浓度和吸光度。

3. 根据权利要求1或2所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其中通过改变所述第三组的至少一种液体流,保持混合液体流的恒定流速。

4. 根据权利要求1或2所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其中所述第三组至少一种溶剂的液体流为水性的。

5. 根据权利要求1或2所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其中所述溶剂包含水。

6. 根据权利要求1或2所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其中所述混合液体流为缓冲液,并且所述第一组的各液体流含有至少一种碱性缓冲液组分,并且所述第二组液体流的各液体流含有至少一种酸性缓冲液组分,或所述第一组的各液体流含有至少一种酸性缓冲液组分,并且所述第二组液体流的各液体流含有至少一种碱性缓冲液组分,并且其中,任选地,至少一种碱性缓冲液组分被强碱替换或至少一种酸性缓冲液组分被强酸替换。

7. 根据权利要求6所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其中所述第一性质为pH,并且所述第二性质为缓冲液浓度,并且其中在权利要求1的步骤e)中,改变所述第一和第二组的液体流中的至少一种,以将pH调节至其预定值。

8. 根据权利要求6所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其中所述第一性质为除pH以外的性质,并且第二性质为缓冲液浓度,并且其中在权利要求1的步骤e)中,改变所述第一和第二组的液体流中的至少一种,以将第一性质调节至其预定值。

9. 根据权利要求8所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其中所述第一性质为电导率或吸光度。

10. 根据权利要求6所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其中所述第一性质为pH,并且所述第二性质为除缓冲液浓度和pH以外的性质,并且其中在权利要求1的步骤e)中,改变所述第一和第二组的液体流中的至少一种,以将pH和第二性质调节至其预定值。

11. 根据权利要求10所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其中所述第二性质为电导率或吸光度。

12. 根据权利要求7或10所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其中测定pH包括测量电导率。

13. 根据权利要求7或8所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法, 其中测定缓冲液浓度包括通过光谱方法, 测量电导率或测量吸光度。

14. 根据权利要求13所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法, 其中所述光谱方法为UV或NIR光谱学。

15. 根据权利要求7或8所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法, 其中所述第一和第二组的液体流各自具有已知的组分浓度, 并且其中测定缓冲液浓度包括测量各液体流的流速和根据测量的流速测定混合液体流的缓冲液浓度。

16. 根据权利要求7或8所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法, 其中测定缓冲液浓度包括通过光谱方法, 对所述第一和第二组的各液体流测量电导率或测量吸光度, 和根据对不同的液体流的测量值测定混合液体流的缓冲液浓度。

17. 根据权利要求16所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法, 其中所述光谱方法为UV或NIR光谱学。

18. 根据权利要求1-2和7-11中任一项所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法, 其中将所述第一组的液体流与所述第二组的液体流合并, 随后与所述第三组液体流合并。

19. 根据权利要求1-2和7-11中任一项所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法, 其中所述混合液体流的预定特性包括预定值的至少第三性质, 并且其中所述方法包括提供各自含有至少一种添加剂的第四组液体流, 将所述第四组液体流与所述第一、第二和第三组液体流合并, 和调节第四组的一种或多种第四液体流, 以将至少第三性质调节至其一个或多个预定值。

20. 根据权利要求19所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法, 其中所述至少一种添加剂包含非缓冲盐。

21. 根据权利要求19所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法, 其中所述第一性质为pH, 所述第二性质为缓冲液浓度, 并且所述第三性质为添加剂浓度。

22. 根据权利要求21所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法, 其中所述第三性质为盐浓度。

23. 根据权利要求19所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法, 其中所述第一性质为pH, 所述第二性质为缓冲液浓度, 并且所述第三性质为电导率或吸光度。

24. 根据权利要求19所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法, 其中所述第一性质为pH, 所述第二性质为电导率和所述第三性质选自添加剂浓度、电导率和吸光度。

25. 根据权利要求19所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法, 其中将所述第一和第二组液体流与所述第三组液体流合并, 随后与所述第四组液体流合并。

26. 根据权利要求6所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法, 其中在权利要求1的步骤e)中, 所述第一和第二组的液体流顺序地或同时变化。

27. 根据权利要求1-2、7-11、14、17和21-26中任一项所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法, 其中测量和/或计算所述混合液体流的预定值。

28. 根据权利要求1-2、7-11、14、17和21-26中任一项所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法, 其包括提供一组不同的液体流的配方, 以得到具有预定特性的混合液体流, 和根据配方通过流反馈控制不同的液体流。

29. 根据权利要求1-2、7-11、14、17和21-26中任一项所述的制备具有预定特性的混合

液体流的方法,其包括提供一组不同的液体流的配方,以得到具有预定特性的混合液体流,和根据配方通过流反馈控制所述不同的液体流,随后通过测量所述混合液体流的性质微调所述不同的液体流,同时改变所述不同的液体流,以将各自的性质调节至其预定值。

30.根据权利要求1-2、7-11、14、17和21-26中任一项所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其包括测量所述混合液体流的性质,同时改变不同的液体流,以将各自的性质调节至其预定值,测定液体流的配方,以得到具有预定特性的混合液体流,随后根据配方通过流反馈控制不同的液体流。

31.根据权利要求1-2、7-11、14、17和21-26中任一项所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其中借助泵和/或阀控制所述液体流。

32.根据权利要求1-2、7-11、14、17和21-26中任一项所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其中第一组测量的性质用于得到具有预定特性的混合液体流,并且第二组测量的性质用于验证。

33.根据权利要求1-2、7-11、14、17和21-26中任一项所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其中通过测量备选性质可测定混合液体流的性质,并且其中通过来自测量所述性质和备选性质中的一个的反馈将所述液体流变化至所述性质的设定点,随后通过来自测量所述性质和备选性质中的另一个的反馈将其变化至设定点。

34.根据权利要求19所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其还包括测量所述第一、第二、第三和第四液体流中的一种或多种的特性。

35.根据权利要求1-2、7-11、14、17、21-26和34中任一项所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其包括为所述混合液体流的预定特性的至少一些提供警报极限。

36.根据权利要求1所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其中所述混合液体流包含醇,其中所述第一性质为脂肪性质,并且其中所述第一组液体流包含具有第一脂肪性质值的第一醇,并且第二组液体流包含具有第二脂肪性质值的醇。

37.根据权利要求1-2、7-11、14、17、21-26、34和36中任一项所述的制备具有预定特性的混合液体流的方法,其通过计算机执行。

## 制备液体混合物的方法

### 发明领域

[0001] 本发明涉及液体混合物的制备,更特别地,本发明涉及混合液体流(例如具有预定特性的缓冲液流)的制备。

### [0002] 发明背景

[0003] 在许多工业方法中,重要的是得到具有精确已知的组成和/或其它特性的液体,所述特性例如pH、离子强度、粘度、密度等。进一步地,通常液体的组成不仅应在每一时刻精确已知并且可控,而且还应以精确和受控的方式随着时间而变化。

[0004] 这样的液体通常通过将两种或更多种液体彼此混合或共混而得到,通常使用共混系统,通常为现场共混系统(on-site blending system),其可提供等度和梯度共混模式(步进梯度和线性梯度)二者。

[0005] 一种应用(其中液体的组成为最重要的)是在液相色谱法领域,当利用具有指定的pH和任选的离子强度的缓冲液时,洗脱液的pH和离子强度是在色谱法中(例如在离子交换树脂上)控制蛋白质分离的选择性的两种最重要的参数。另一种这样的应用为过滤。

[0006] 用于在线递送期望的液体组成的共混系统通常基于两种不同的方法,即(i) 使用传感器反馈控制测量的液体参数,以设定液体组分比例,得到期望的组成,和(ii) 流反馈控制,其中计算液体组分的混合比的方案(recipe)或配方(formula),以得到期望的液体组成,并且其中随后经由相应流速的反馈控制,保持这些比例。

[0007] 首先提及的方法实例在US 2008/0279038 A1中公开,其描述了一种使用连续操作模式用于共混三种液体(进料液体、第一和第二调节液体)的共混系统。相应地,进料液体为例如水,调节液体可为盐浓缩溶液和醇。将液体在再循环回路中混合。通过与控制系统的阀和泵的系统控制器连通的电导率传感器感测再循环溶液的电导率。近红外(NIR)传感器检测醇浓度。当已达到靶标电导率和醇浓度水平时,将回路的输出递送至过程。盐浓缩溶液和醇加入速率持续基于来自电导率传感器和NIR传感器的反馈控制。

[0008] 一种不同的液体共混方法是测定其中将液体共混的精确的相对组分比例或比率,以得到具有预定特性的期望的液体混合物,通常使用适当的算法,随后通过以预定比率的计量系统,通过进料不同的液体,产生液体混合物流。

[0009] 使用“流反馈控制”而不是“液体参数控制”的上述第二种方法的实例在US 6,221,250B1中公开,其中用于液相色谱法的设备包含在线计量装置,该装置能将一种或多种缓冲物类、酸或碱、任选盐和溶剂的洗脱液进料到色谱分离装置中。通过使用Debye-Hückel方程的近似值,计量装置计算在给定盐浓度下得到所选pH的洗脱液所需的组分的相对比例。通过迭代过程实现这一点,其中不同的组分伴随变化,其方式考虑在液体混合物中pH和离子强度的相互关系。

[0010] 允许使用较高浓度的缓冲液和/或盐的该方法的发展在W0 2009/131524 A1中公开。此处提供混合机控制单元,以使用Debye-Hückel方程控制相对组分比例,其中测定在Debye-Hückel方程中的离子尺寸 $\alpha$ 作为对液体混合物的离子强度做出贡献的所有物类的加权平均离子尺寸,其中各物类的离子强度用作加权参数。在该改进的方法中,其优选通过计

算机执行,首先计算精确的组成,随后在单一步骤中制备液体混合物,通常为缓冲液。在一个实施方案中,在连续过程中在线得到缓冲液定义。

[0011] 然而,基于组分比例的计算的上述方法的缺点在于,在使用时人们必须知道储液的精确浓度和/或其它特性。该缺陷通过在国际申请公布号W0 2011/037530中公开的方法来弥补,其中将至少两种不同的组分储液彼此混合,并且其包括如下步骤:通过在各储液的流中,单独地感测与储液的性质值相关的至少一种特性,来测定一种或多种储液的所选性质值,并且基于一个或多个测得的性质值,以得到期望的混合液体流的混合比混合储液流。

[0012] 本发明的目的是提供备选的(并且在若干方面,改进的)方法,所述方法经由感测的液体参数,基于反馈控制,根据首先提及的方法,制备具有预定特性的液体混合物流(例如缓冲液),所述方法可任选与基于流计量反馈控制的第二方法一起使用,并且所述方法可方便地自动化,例如通过计算机执行。

[0013] 发明概述

[0014] 通过本发明的液体共混方法,实现上述目的以及其它目的和优点,所述方法提供具有期望特性的混合液体流,通常为缓冲液流,做法是将至少三种不同的液体流混合,其中两种(或更多种)液体具有不同的期望性质值,并且它们的比例变化,以得到期望的性质。例如,通过将缓冲液组分的流、溶剂(通常水)和任选的盐混合,可得到具有预定的缓冲液浓度和pH以及任选的电导率和/或盐浓度、或pH和电导率的缓冲液流。

[0015] 当制备例如,具有期望的pH和缓冲液浓度的缓冲液流时,所述方法的基本特征在于:首先使用碱性和酸性缓冲液组分流(通常具有相应的储液浓度)的初始预先选择的相互比例,制备具有期望的缓冲液浓度的缓冲液流,随后通过改变缓冲液组分流,将pH调节至期望的pH值,优选通过同时改变一种或多种其它液体流,以保持缓冲液浓度恒定。

[0016] 然而,本发明的方法不局限于制备缓冲液流,而是可制备多种其它混合液体流。同样,预定的特性或性质不局限于pH和缓冲液浓度。

[0017] 在其最宽的方面,因此,本发明提供一种制备具有预定特性(包括预定值的第一性质和预定值的第二性质)的混合液体流的方法,所述方法包括以下步骤:

[0018] a) 提供第一组至少一种各自具有不同的第一值的第一性质的液体流;

[0019] b) 提供第二组至少一种各自具有不同的第二值的第一性质的液体流;

[0020] c) 提供第三组至少一种溶剂的液体流;

[0021] d) 将提供的液体流合并;和

[0022] e) 改变第一和第二组的液体流中的至少一种和第三组的至少一种液体流,以在所得到的混合液体流中将第一性质和第二性质调节至其各自的预定值。

[0023] 在以上步骤e)中,第一和第二组的液体流可序贯或同时改变。

[0024] 第一和第二性质通常选自pH、电导率、浓度和吸光度。

[0025] 第一和第二组液体流的第一性质通常为液体的真实性质,排除缺乏该性质的液体,即,性质值不同于0。

[0026] 在所述方法的一个优选实施方案中,通过改变至少一种第三组的液体流,保持混合液体流的恒定流速。

[0027] 虽然溶剂通常为水性液体,优选水,但其也可其它液体,例如一种或多种有机液体。

[0028] 混合液体流通常为缓冲液流。在这种情况下,第一组的各液体流含有至少一种碱性缓冲液组分,而第二组液体流的各液体流含有至少一种酸性缓冲液组分,或反之亦然。任选地,至少一种碱性缓冲液组分被强碱代替,或至少一种酸性缓冲液组分被强酸代替。

[0029] 术语缓冲液组分应在广义上解释,包括具有缓冲性质的任何物质。例如,液体流可含有多于一种缓冲液组分,以制备缓冲液混合物。当然,缓冲液混合物还可通过将各自含有单一缓冲液组分的两种或更多种液体流混合来制备。

[0030] 在用于制备缓冲液流的方法的一种变体中,第一性质为pH,并且第二性质为缓冲液浓度。以上方法的步骤e)则包括改变第一和第二组的液体流中的至少一种,以将pH调节至其预定值。

[0031] 在另一种变体中,第一性质为除pH以外的性质,通常为电导率或吸光度,并且第二性质为缓冲液浓度。所述方法的步骤e)则包括改变第一和第二组的液体流中的至少一种,以将第一性质调节至其预定值。

[0032] 在再一种变体中,第一性质为pH,并且第二性质为除缓冲液浓度和pH以外的性质,通常为电导率或吸光度。所述方法的步骤e)则包括改变第一和第二组的液体流中的至少一种,以将pH和第二性质调节至它们的预定值。

[0033] 虽然pH的测定通常使用pH计或传感器进行,但是pH也可通过间接方法测定。一种示例性的这样的间接方法包括如2010年12月17日提交的瑞典专利申请号1051344-8中所描述的测量电导率(其公开内容通过引用结合到本文中)。

[0034] 该文献描述了如下预测液体溶液(例如缓冲液)的电导率:求出存在于溶液中的不同离子的精确浓度,包括弱电解质的每一种带电荷物类的平衡浓度,测定每一种带电荷物类的摩尔电导率,计算相应的电导率,并且将所有单个的电导率相加,以得到液体混合物的总电导率。然而,所描述的电导率预测步骤也可用于由测量的溶液电导率间接测定pH。用于测量pH的相应装置包含电导率传感器和工具,用于以向后的计算模式,使用电导率预测步骤,由测量的电导率计算pH。

[0035] 测定混合液体流的缓冲液浓度可通过光谱方法测量电导率或测量吸光度进行,优选(但不限于)UV或NIR光谱学。

[0036] 在一种变体中,通过测量含有缓冲液组分(包括强酸或碱)的液体流的流速和根据相应液体流的已知(储液)浓度计算缓冲液浓度,来测定混合液体流的缓冲液浓度。

[0037] 在另一种变体中,测定缓冲液浓度包括通过光谱方法,优选(但不限于)UV或NIR光谱学,对第一和第二组的各液体流测量电导率或测量吸光度,和根据对不同液体流的测量值,测定混合液体流的缓冲液浓度。

[0038] 在上述本发明的方法中,优选将第一组的液体流与第二组的液体流合并,随后与第三组液体流合并。

[0039] 然而,除了上述第一和第二性质以外,混合液体流的期望特性可包括一种或多种另外的期望性质,和/或所述方法可包括提供第四和任选更多组液体流。

[0040] 在这种情况下,所述方法可包括提供各自含有至少一种添加剂的第四组液体流,将第四组液体流与第一、第二和第三组液体流合并,和调节第四组的一种或多种第四液体流,以将至少第三性质调节至其一个或多个预定值。

[0041] 典型的添加剂为非缓冲盐,但是可任选还提供其它添加剂,例如洗涤剂。

[0042] 在包括第四液体流的方法的一种变体中,第一性质为pH,第二性质为缓冲液浓度,并且第三性质为添加剂浓度,优选盐浓度。

[0043] 在另一种变体中,第一性质为pH,第二性质为缓冲液浓度,并且第三性质为电导率或吸光度。

[0044] 在又一种变体中,第一性质为pH,第二性质为电导率,并且第三性质选自添加剂浓度、电导率和吸光度。

[0045] 优选地,将第一和第二组液体流与第三组液体流合并,随后与第四组液体流合并。

[0046] 可测量和/或计算混合液体流的不同的预定性质值。

[0047] 通常,测量混合液体流的性质。

[0048] 实施本发明方法的一种变体包括提供一组不同的液体流的配方,以得到具有预定特性的混合液体流,和根据配方通过流反馈控制不同的液体流。

[0049] 另一种方法变体包括测量混合液体流的性质,同时改变不同的液体流,以将性质调节至它们的预定值,测定所需的液体流,随后通过流反馈控制不同的液体流。

[0050] 又一种方法变体包含提供一组不同的液体流的配方,以得到具有预定特性的混合液体流,和根据配方通过流反馈控制不同的液体流,随后通过测量混合液体流的性质微调不同的液体流,同时改变不同的液体流,以将各自的性质调节至它们的预定值。

[0051] 再一种方法变体包括测量混合液体流的性质,同时改变不同的液体流,以将各自的性质调节至它们的预定值,确定液体流的配方(例如通过使用所谓的类比机器),以得到具有预定特性的混合液体流,随后根据配方通过流反馈控制不同的液体流。

[0052] 通常借助泵和/或阀控制不同的液体流。

[0053] 在本发明的方法中,第一组测量的性质可用于得到具有预定特性的混合液体流,而第二组测量的性质可用于验证。

[0054] 在所述方法的一种变体中,通过测量备选的性质可测定混合液体流的性质。通过来自测量性质和备选性质中的一个的反馈,将液体流首先变化至性质的设定点。随后通过来自测量性质和备选性质中的另一个的反馈,将液体流变化至设定点。通常,得到最快反馈的性质和备选性质中的一个首先用于快速达到设定点,而另一个(更精确的)性质随后用于微调至设定点。

[0055] 所述方法可另外包括测量第一、第二、第三和第四液体流中的一种或多种的特性,以有助于确保混合液体流的期望特性。

[0056] 优选地,为混合液体流的预定特性的至少一些提供警报极限(alarm limits),以仅允许正确的混合液体离开系统。

[0057] 然而,如以上提及的,本发明不局限于制备缓冲液流,而是通过所述方法可制备其它类型的液体混合物或共混物。例如,可制备各种类型的醇混合物,其具有例如预定的脂肪性质。上述第一组液体流则可包含具有第一脂肪性质值的第一醇,而上述第二组液体流可包含具有第二脂肪性质值的醇,其中以适当比例混合两种醇将得到期望的脂肪值的醇混合物。

[0058] 在本发明的一个具体实施方案中,提供了一种制备具有预定缓冲液浓度和预定pH的缓冲液流的方法,所述方法包括以下步骤:

[0059] a) 提供具有储液浓度的碱性缓冲液组分的第一液体流,

- [0060] b) 提供具有储液浓度的酸性缓冲液组分的第二液体流,
- [0061] c) 提供水性液体的第三液体流,
- [0062] d) 将液体流以所选的比例合并,以提供具有预定缓冲液浓度的合并的液体流,和
- [0063] e) 改变第一和第二液体流中的至少一种,以将合并的液体流的pH调节至所述预定的pH,同时通过改变第三液体流,保持预定的缓冲液浓度。
- [0064] 优选地,改变第一和第二液体流使缓冲液向合并的液体流的递送速率保持恒定,并且通过改变第三液体流,合并的液体流(即总缓冲液流)保持恒定。
- [0065] 在上述方法实施方案的一种变体中,期望的缓冲液流还具有预定的盐浓度。在这种情况下,在以上方法步骤d)和e)之间,所述方法还包括以下步骤:提供含有储液浓度的盐的第四液体流,将第四液体流与第一、第二和第三流合并,以提供所述合并的液体流,和调节第四液体流的比例,以在合并的液体流中得到所述预定的盐浓度,同时通过改变第三液体流,使合并的液体流保持恒定。
- [0066] 在上述方法实施方案的另一种变体中,期望的缓冲液流包含盐并且具有预定的电导率。在这种情况下,在以上方法步骤d)和e)之间,所述方法还包括以下步骤:提供含有储液浓度的盐的第四液体流,将第四液体流与第一、第二和第三流合并,以提供所述合并的液体流,和调节第四液体流的比例,以得到合并的液体流的所述预定电导率,同时通过改变第三液体流,使合并的液体流保持恒定。
- [0067] 在所述方法的再一种变体中,期望的缓冲液流具有预定的pH,但是具有预定的电导率而不是缓冲液浓度。在这种情况下,所述方法包括选择初始缓冲液浓度,和调节合并的液体的pH以及电导率,使得得到预定的pH和电导率。pH和电导率的调节可序贯(和任选重复)或同时进行。
- [0068] 特别地,这样的变体包括以下步骤:
- [0069] a) 提供具有储液浓度的碱性缓冲液组分的第一液体流,
- [0070] b) 提供具有储液浓度的酸性缓冲液组分的第二液体流,
- [0071] c) 提供水性流体的第三液体流,
- [0072] d) 将液体流以所选的比例合并,以提供具有所选的初始缓冲液浓度的合并的液体流,和
- [0073] e) 序贯或同时改变第一和第二液体流中的至少一种,以将合并的液体流的pH调节至所述预定的pH,和将合并的液体流的电导率调节至所述预定的电导率。
- [0074] 所述方法可方便地通过在电数据处理装置(例如计算机)上运行的软件执行。这种软件可在任何合适的计算机-可读的介质上提供给计算机,包括记录介质、只读存储器或可由电或光缆或通过无线电或其它手段输送的电或光信号。
- [0075] 因此,本发明的另一方面涉及一种计算机程序产品,所述产品包含用于使计算机执行上述方法变体中任一种的方法步骤的指令。
- [0076] 其它优选的实施方案在从属权利要求中描述。
- [0077] 参考以下详述和附图,可以更完整地理解本发明以及本发明的其它特征和优点。
- [0078] 附图简述
- [0079] 图1为可用于本发明方法的液体共混系统的示意图。
- [0080] 图2为显示在用于制备100 mM柠檬酸盐缓冲液(pH 3.5)的储液的混合期间,总流、

pH和电导率相应变化的一组图。

[0081] 图3显示说明在使用两种不同的策略,用于制备盐梯度的共混操作期间,工艺参数变化的两个图。

[0082] 图4显示说明在分别使用恒定的缓冲液浓度(顶部)和pH梯度(底部)共混操作期间,工艺参数变化的两个图。

[0083] 发明详述

[0084] 如以上提及的,本发明涉及一种产生具有预定特性的混合液体流的改进方法。混合液体流通常为缓冲液液体流,其例如具有预定的缓冲液浓度和pH,还任选电导率和/或盐浓度,或预定的pH和电导率,特别用于在工业方法(例如色谱法和过滤)中在线递送缓冲液。简言之,为了制备这种缓冲液流,例如,使用具有储液浓度的缓冲液组分流和水性流的初始计算的比例首先建立具有预定的缓冲液浓度的液体流。如果需要,随后通过单独的流加入盐,通过调节水性流,保持预定的缓冲液浓度,以保持总缓冲液流恒定。最后,通过调节相互的缓冲液组分流比例,将缓冲液流的pH调节至预定的pH,同时调节一种或多种其它液体流,以保持预定的缓冲液浓度。

[0085] 不同于在流反馈控制类型的共混系统中使用者提供不同缓冲液组分的混合比,当系统达到稳态时,自动地得到最终的比率,并且当需要时,混合比可取而代之地由在预定的pH、缓冲液浓度和电导率(或盐浓度)下制备缓冲液混合物的系统读取。采用该方式,即使在混合物中使用盐,也可得到正确的缓冲液浓度。

[0086] 更具体地,如以下描述的,根据来自控制pH传感器的信号,当其它组分降低(或保持恒定)时,质量守恒方程用于计算应增加多少相应于缓冲液组分之一的流。

[0087] 虽然所述方法通常适用于制备混合液体流用于各种目的,例如缓冲液液体流,包括等度和梯度缓冲液混合物,但以下详细说明将仅借助实施例,并且没有任何限制性含义,主要涉及液相色谱法和过滤领域,其中液体混合物的pH和/或离子强度为特别关注的。在进一步描述本发明之前,首先概括性地论述在本发明中特别关注的三个参数,即pH、电导率和缓冲液浓度。

[0088] pH和pH控制

[0089] pH值描述溶液中的酸度,并且定义为氢离子(或质子)活性的负对数。大多数生物学过程受到pH变化的影响,原因在于pH影响分子水平的相互作用和分子构象。出于相同的原因,pH的变化可用于控制色谱方法,例如在生产生物药物(例如单克隆抗体)中。作为实例,pH为在单克隆抗体和蛋白质A色谱介质之间的相互作用的关键参数。

[0090] pH控制的关键为缓冲液。缓冲液为一种能接受或供给氢离子的分子。通过向溶液中加入大量的这种分子,通过有效降低作为氢或羟基离子的量的函数的pH变化速率,可实现pH控制。该“缓冲能力”与缓冲液浓度成比例。还可通过有意将两种不同质子化状态的缓冲液分子组合来控制pH。由于宏观化学试剂必须为电中性的,在适量反荷离子的存在下,可使作为缓冲液起作用的那些具有不同的质子化状态。这可例如通过“弱酸”与相应的弱碱混合而得到。出于环境或人安全原因,优选将弱酸与强碱(如NaOH)混合,或将弱碱与强酸(如HCl)混合。

[0091] 缓冲物质的关键参数为其pKa值,pKa值为50%的缓冲分子在两种不同的质子化状态的每一种时的pH值。一些缓冲物质如磷酸盐和柠檬酸盐具有若干pKa值(多元缓冲液)。当电

导率提高时,例如通过向缓冲溶液中加入盐,物质的 $pK_a$ 值可显著偏移。在不同的盐浓度下,对于不同的缓冲液系统,这种偏移程度的认识可用于精确的pH控制。

#### [0092] 电导率

[0093] 由于缓冲物质为弱电解质,不存在简单的模型可将电导率作为浓度的函数关联。对缓冲液电导率的贡献起因于相应于不同质子化步骤的不同组分。不同状态的精确比例取决于平衡,因此随着pH等而变化。对电导率的重要贡献来自强电解质,例如 $Na^+$ 和 $Cl^-$ 离子,尤其是在较高的盐浓度下。电导率控制是重要的,这是由于电导率(或离子强度)也可影响分子间相互作用,因此可用于控制用于生物药物生产的色谱方法,尤其是这样使用离子交换色谱法或疏水相互作用色谱法。加入盐(如 $NaCl$ 或 $Na_2SO_4$ )为提高溶液的电导率的成本有效的方式。电导率也是溶液浓度的良好度量,即使二者之间的关系并非微不足道也如此。例如凭经验得到的该关系的认识可用于确定浓度或储液是否正确。

#### [0094] 缓冲液浓度

[0095] 缓冲液浓度是重要的,主要由于两种主要的原因。主要的原因与缓冲能力与缓冲液浓度成比例的情况相关。理解缓冲能力对缓冲液组成的依赖性最具有价值,这是由于在纯化期间使用具有太低缓冲能力的缓冲液可导致过程稳健性(process robustness)低并且收率差。一个具体的系统的缓冲能力本身主要对两种因素敏感:缓冲物质的 $pK_a$ 值是之一,而缓冲液浓度为另一个因素。根据经验法则,pH将在围绕 $pK_a$ 值的对称间隔中稳定。然而具有良好缓冲能力的间隔宽度取决于缓冲液浓度,其关系为缓冲液浓度越高则间隔越宽。该间隔的真实中心(所谓的 $pK_a$ 值)几乎总是与列表的 $pK_a$ 值偏移,这是对理想情况无限稀释的内插(interpolation)。良好缓冲能力的要求通常为缓冲液浓度设定下限。通常由溶液中具有太多缓冲液而导致的非期望效果来设定缓冲液浓度的上限。这些效果之一可为太高的电导率。然而,在其它情况下,可期望高电导率,其导致缓冲液浓度的二次使用或重要性,即对于一些应用,可为合适的是,使用缓冲盐,以调节电导率至高水平,而不使用非缓冲盐。

[0096] 现在来看本发明,以下参考图1来描述:根据本发明,使用pH和电导率反馈控制来制备期望的缓冲液流,图1以图表形式显示共混系统或布置(arrangement)的一个实施方案,根据本发明方法,其可用于制备具有预定的缓冲液浓度、pH和任选电导率或盐浓度的缓冲液,例如用于色谱法。

[0097] 酸性缓冲液组分B1的储液的流通过导管1供应,而碱性缓冲液组分B2的储液流通过导管2供应。导管1和2在第一接头3接合。

[0098] 水(WFI-注射用水)通过导管4供应,并且,当需要时,盐溶液通过导管5供应。导管4和5在第二接头6接合。

[0099] 第一和第二接头3和6通过相应的导管8和9与第三接头7连接,其进而与缓冲液递送导管10连接。导管10配备有pH传感器11和电导率传感器12。

[0100] 通过任选的一个或多个导管(用虚线13表示),可加入一种或多种添加剂,例如,洗涤剂、有机溶剂(例如DMSO)等。

[0101] 标识 $q_1$ 、 $q_2$ 、 $q_3$ 、 $q_4$ 和 $q_n$ 在图1中表示流速(例如L/h),或者B1、B2、盐溶液、WFI和添加剂(如果有的话)相应地在总流中的比例(例如%)。

[0102] 该系统还包含泵和流量计(未显示)和任选的一种或多种另外的传感器。

[0103] 注意到,如以上提及的,用于进行本发明方法的示于图1的布置或系统仅为一个实

例并且可改变。

[0104] 通过以上概述的系统,例如,供给盐溶液(盐)和酸B1和碱B2溶液的储液,可自动化制备具有预定pH、具有特定缓冲液浓度C和特定盐浓度的缓冲液。缓冲液组分B1和B2可为相应的酸/碱缓冲物质对,或者其中之一可为强酸或碱,而另一个为缓冲物质。缓冲液组分B1或B2还可为两种或更多种组分的混合物。

[0105] 使用该液体共混系统可产生的示例性缓冲液包括磷酸盐、乙酸盐、柠檬酸盐、三羟甲基氨基甲烷缓冲液(tris)和双-三羟甲基氨基甲烷缓冲液(bis-tris)、混合乙酸盐/磷酸盐缓冲液和混合乙酸盐/甲酸盐/磷酸盐缓冲液,仅以这些为例。例如,为了制备混合乙酸盐/甲酸盐/磷酸盐缓冲液,酸性组分B1可为例如HCl,而碱性组分B2可为例如乙酸钠、甲酸钠和磷酸钠的混合物。

[0106] 还假定,总流 $q_T$ 为已知和恒定的。还考虑,即使该盐不是缓冲液,离子强度的变化也可导致缓冲物质的 $pK_a$ 值偏移。

[0107] 通常使用的非缓冲盐包括,例如,氯化钠和氯化钙。

[0108] 仅通过举例的方式,现在描述使用以上概述的系统,利用多个(至多三个)随后的步骤,来制备期望的缓冲液的策略,这些步骤必须视缓冲液使用者所期望的规格而定,根据四种不同的假定情形或情况来论述,如以下表1所描述的。

[0109] 表1

[0110]

| 情况 | 盐 | 指定的缓冲液浓度 | 指定的盐浓度 | 指定的电导率 |
|----|---|----------|--------|--------|
| 1  | 是 | 是        | 否      | 是      |
| 2  | 否 | 否        | 否      | 是      |
| 3  | 否 | 是        | 否      | 否      |
| 4  | 是 | 是        | 是      | 否      |

[0111] 使用该划分,根据以下定义过程的各步骤:

[0112] 在图1中,通过电导率传感器12测量的电导率值在以下称为“Cond”,而通过pH传感器11测量的pH值在以下称为“pH”。

[0113] 步骤1:所有情况

[0114] 如下计算B1和B2的初始比例(百分比)。C为缓冲液浓度, $q_1$ 至 $q_4$ 表示流,或者,相应地,B1、B2、盐和WFI的百分比。

[0115] 如以上表1中说明的,情况1、3和4中,指定了缓冲液浓度C,而情况2没有指定缓冲液浓度。因此在后一种情况下,在步骤1中选择合适的初始缓冲液浓度,例如50 mM。

[0116] 对于B1=弱酸并且B2=弱碱:

[0117]  $q_1 = (C * 0.5) / (\text{储液浓度B1}) * 100$

[0118]  $q_2 = (C * 0.5) / (\text{储液浓度B2}) * 100$

[0119] 对于B1=强酸并且B2=弱碱:

[0120]  $q_1 = 0$

[0121]  $q_2 = 100 * C / (\text{储液浓度B2})$

[0122] 对于B1=弱酸并且B2=强碱:

[0123]  $q_1 = 100 * C / (\text{储液浓度B1})$

[0124]  $q_2=0$

[0125] 设定盐百分比( $q_3$ )为0,并且WFI百分比( $q_4$ )为 $q_4=100-q_1-q_2-q_3$ (如果以%计),并且 $=q_T-q_1-q_2-q_3$ (如果以流计,对于工作流的其余部分情况相同),其中 $q_T$ 为总流。对于过程的其余部分,保持该总流要求。

[0126] 在图1中通过导管13加入添加剂的液体流(或多个流) $q_n$ 的情况下,这些添加剂流各自采用与盐相同的方式处理。

[0127] 通过使用如上所述计算的设定,容易地看到,缓冲液浓度从开始就已经是正确的,例如在弱酸-弱碱的情况下,来自各储液B1和B2为0.5C。

[0128] 然而,以上提出的设定仅为示例性的并且可改变。优选地,计算B1/B2比例,以提供在期望的预定pH值附近的pH。

[0129] 使用以上描述的设定开始运行系统。

[0130] 步骤2

[0131] 情况1

[0132] 使用通过电导率传感器12感测的电导率开始(图1),以调节 $q_3$ 。

[0133] 如果Cond低于靶标,则提高 $q_3$ ,而如果Cond超过靶标,则降低 $q_3$ 。

[0134]  $q_1$ 和 $q_2$ 均保持恒定。

[0135]  $q_4$ 如下给出: $q_4=100-q_1-q_2-q_3$ 。

[0136] 情况2

[0137] 跳过步骤2。

[0138] 情况3

[0139] 跳过步骤2。

[0140] 情况4

[0141] 设定 $q_3=100*(\text{盐浓度})/(\text{盐储液浓度})$

[0142] (独立于浓度以M或以%给出而工作)。

[0143]  $q_1$ 和 $q_2$ 保持恒定,并且

[0144]  $q_4=100-q_1-q_2-q_3$ 。

[0145] 步骤3:除情况2以外的所有情况

[0146] 开始使用pH调节图1中接头3的比例,直至满足最终的pH规格。

[0147] 对于B1=弱酸并且B2=弱碱:

[0148] 如果pH超过靶标,则提高 $q_1$ ,而如果pH低于靶标,则降低 $q_1$ ;

[0149]  $q_2=(100*C-(\text{储液浓度B1})*q_1)/(\text{储液浓度B2})$ 。

[0150] 对于B1=强酸并且B2=弱碱:

[0151] 如果pH超过靶标,则提高 $q_1$ ,而如果pH低于靶标,则降低 $q_1$ 。

[0152] 对于B1=弱酸并且B2=强碱:

[0153] 如果pH超过靶标,则降低 $q_2$ ,而如果pH低于靶标,则提高 $q_2$ 。

[0154]  $q_4=100-q_1-q_2-q_3$

[0155] 采用该方式,总缓冲液浓度如下给出:

[0156]  $(q_1/100)*(\text{储液浓度B1})+(q_2/100)*(\text{储液浓度B2})=C$ 保持恒定。

[0157] 步骤3:仅情况2(备选1)

- [0158] 如果 $Abs(pH-靶标) \geq \epsilon$
- [0159] “ $\epsilon$ ”为小的值,通常为约0.02 pH单位或更小。
- [0160] 对于 $B1=弱酸$ 并且 $B2=弱碱$ :
- [0161] 如果pH超过靶标,则提高 $q1$ ,而如果pH低于靶标,则降低 $q1$ 。
- [0162]  $q1$ 变化  $\Delta q$ 。
- [0163]  $q2$ 变化  $-\Delta q * (储液浓度B1)/(储液浓度B2)$ 。
- [0164] 对于 $B1=强酸$ 并且 $B2=弱碱$ :
- [0165] 如果pH超过靶标,则提高 $q1$ ,而如果pH低于靶标,则降低 $q1$ ;
- [0166]  $q2$ 保持恒定。
- [0167] 对于 $B1=弱酸$ 并且 $B2=强碱$ :
- [0168]  $q1$ 保持恒定;
- [0169] 如果pH超过靶标,则降低 $q2$ ,而如果pH低于靶标,则提高 $q2$ 。
- [0170]  $q4=100-q1-q2-q3$ 。
- [0171] 如果 $Abs(pH-靶标) < \epsilon$
- [0172] 使用通过电导率传感器12感测的电导率(图1),以在图1中第三接头7调节比例,直至满足最终的电导率规格。
- [0173] 对于 $B1=弱酸$ 并且 $B2=弱碱$ :
- [0174]  $q1$ 变化  $\Delta q$ ;
- [0175]  $q2$ 变化  $\Delta q * (储液浓度B1)/(储液浓度B2)$ 。
- [0176] 对于 $B1=强酸$ 并且 $B2=弱碱$ :
- [0177]  $q1$ 保持恒定;
- [0178]  $q2$ 变化  $\Delta q$ 。
- [0179] 对于 $B1=弱酸$ 并且 $B2=强碱$ :
- [0180]  $q1$ 变化  $\Delta q$ ;
- [0181]  $q2$ 保持恒定。
- [0182]  $q4=100-q1-q2-q3$ 。
- [0183] 注意到,在该备选, pH和电导率调节过程不同时进行,而是一次一个。
- [0184] 步骤3:仅情况2(备选2)
- [0185] 如下同时调节pH和电导率,以使期望值和实际值之间的差异达到稳定,例如,分别通过  $\Delta pH$ 和  $\Delta Cond$ 。
- [0186]  $\Delta q_{pH}$ 为对于pH调节,相应地,  $B1$ 和 $B2$ 的变化
- [0187]  $\Delta q_c$ 为对于电导率调节,相应地,  $B1$ 和 $B2$ 的变化
- [0188]  $x=(储液浓度B1)/(储液浓度B2)$
- [0189] 对于 $B1=弱酸$ 并且 $B2=弱碱$ (四种情况):

| pH>靶标并且 Cond<靶标 |                  |                 |                                 |
|-----------------|------------------|-----------------|---------------------------------|
|                 | pH               | Cond            | 总计                              |
| B1              | + $\Delta$ qpH   | + $\Delta$ qC   | $\Delta$ qpH+ $\Delta$ qC       |
| B2              | - $\Delta$ qpH/x | + $\Delta$ qC/x | - $\Delta$ qpH/x+ $\Delta$ qC/x |

| pH<靶标并且 Cond<靶标 |                  |                 |                               |
|-----------------|------------------|-----------------|-------------------------------|
|                 | pH               | Cond            | 总计                            |
| B1              | - $\Delta$ qpH   | + $\Delta$ qC   | - $\Delta$ qpH+ $\Delta$ qC   |
| B2              | + $\Delta$ qpH/x | + $\Delta$ qC/x | $\Delta$ qpH/x+ $\Delta$ qC/x |

[0190]

| pH>靶标并且 Cond>靶标 |                  |                 |                                 |
|-----------------|------------------|-----------------|---------------------------------|
|                 | pH               | Cond            | 总计                              |
| B1              | + $\Delta$ qpH   | - $\Delta$ qC   | $\Delta$ qpH- $\Delta$ qC       |
| B2              | - $\Delta$ qpH/x | - $\Delta$ qC/x | - $\Delta$ qpH/x- $\Delta$ qC/x |

| pH<靶标并且 Cond>靶标 |                  |                 |                               |
|-----------------|------------------|-----------------|-------------------------------|
|                 | pH               | Cond            | 总计                            |
| B1              | - $\Delta$ qpH   | - $\Delta$ qC   | - $\Delta$ qpH- $\Delta$ qC   |
| B2              | + $\Delta$ qpH/x | - $\Delta$ qC/x | $\Delta$ qpH/x- $\Delta$ qC/x |

[0191] 对于B1=强酸并且B1=弱碱,或B1=弱酸并且B1=强碱:

[0192] 通过保持弱酸(或碱)恒定和改变强碱(或酸),调节pH。

[0193] 由以上显然可见,pH调节不改变缓冲液浓度。

[0194] 对于如上对色谱系统所述的缓冲液制备的控制,可使用用于控制色谱系统(如果有的话)的软件。一种示例性的此类软件为Unicorn™控制系统(GE Healthcare Bio-Sciences AB,Uppsala,瑞典),其基于控制器和具有计算机图形用户界面的I/O界面,为控制系统的必不可少的部分。

[0195] 实施例1

[0196] 用pH和电导率反馈系统测试缓冲液

[0197] 基本上对应于图1所示的液体共混系统用于制备三种缓冲液混合物A3、C3和P6的液体流,如下表2中详细说明的。连续监测制备的缓冲液的流、电导率和pH。

[0198] 表2

[0199]

| 测试ID | 缓冲液系统            | 储液1                                                      | 储液2                                                      | 储液3 |
|------|------------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-----|
| A3   | 100 mM乙酸盐pH 5.0  | 0.5M HAc                                                 | 1.0M NaC*3H <sub>2</sub> O                               | n/a |
| C3   | 100 mM柠檬酸盐pH 3.5 | 0.5M柠檬酸*1H <sub>2</sub> O                                | 0.5M Na <sub>3</sub> 柠檬酸盐*2H <sub>2</sub> O              | n/a |
| P6   | 30 mM磷酸盐pH 6.5   | 0.4M NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> *1H <sub>2</sub> O | 0.4M Na <sub>2</sub> HP0 <sub>4</sub> *2H <sub>2</sub> O | n/a |

[0200] 缓冲液C3的运行结果示于图2并且在以下描述。在图2中,顶部曲线为合并的流,中

间曲线为pH,而底部曲线为电导率。

[0201] 参考图2,得到以下结果:

[0202] 流:400 L/h:389-411 L/h,平均399.9 L/h

[0203] pH:3.45-3.54,平均3.50

[0204] 电导率:5.24-5.84mS/cm,平均5.53 mS/cm

[0205] 至平衡的时间:流:1.6分钟,pH:4.9分钟,Cond:4.9分钟

[0206] 由图2中的图显而易见,在短时间内得到产生具有期望的pH和电导率的稳定缓冲液流的有效混合。

[0207] 对于流所得到的最终值与由以上使用的方案得到的比率的比较示于下表3。

[0208] 表3

| 测试 ID | 靶标 pH | 离线实验室 | 离线, 来自流 | 在线        |      |
|-------|-------|-------|---------|-----------|------|
|       |       |       |         | 间隔        | 平均   |
| A3    | 5.00  | 4.98  | 5.00    | 4.95-5.01 | 4.98 |
| C3    | 3.50  | 3.60  | 3.66    | 3.45-3.54 | 3.50 |
| P6    | 6.50  | 6.58  | 6.57    | 6.48-6.53 | 6.50 |

[0210] 由以上结果显然可见,在线pH值显示与预期值极好的一致,然而离线值显著较高(由于在线pH测量的误差)。

[0211] 对于pH和电导率反馈运行的流反馈混合比的比较示于下表4。

[0212] 表4

| 测试 ID | 流最终的值           | 混合比率(%) 1:2:3:水(流反馈运行)<br>这些比率相应于由平衡方程的分析求解得到的方案 |
|-------|-----------------|--------------------------------------------------|
| A3    | 6.7:8.2:0:85.1  | 6.60:6.50:0:86.90                                |
| C3    | 13.2:5.7:0:81.1 | 13.88:5.22:0:80.90                               |
| P6    | 5.1:2.2:0:92.8  | 5.39:1.90:0:92.71                                |

[0214] 由表4还可看到,在其中两种pH值没有太多不同的情况下,则比率也非常类似,即系统作为平衡方程组的模拟解算器运转。

[0215] 实施例2

[0216] 缓冲液的配制

[0217] 根据本发明的方法,基本上相应于示于图1的液体共混系统用于缓冲液配制。结果示于图3和4。

[0218] 相应的酸/碱和盐和WFI的浓缩物用于,以相同的浓缩物组的顺序,配制不同的缓冲液。考虑储液浓度的算法用于使用流反馈确定实现正确的pH和浓度的方案(图3,底部)。作为备选的方法,流反馈与pH反馈组合(图3,顶部,以及图4,顶部),并且pH反馈与电导率反馈组合(图4,底部)。后一个选项允许改变储液浓度。

[0219] 参考图3,相应地,使用20 mM柠檬酸盐(pH,3.5)、0-1M NaCl和流速400(顶部)和300(底部) L/h,制备盐梯度。使用两种不同的策略。顶部图:对于碱(流速为曲线a)和酸(曲线b)的pH反馈与对于盐(曲线c)和WFI(曲线d)的流反馈组合。底部图:对于所有组分的方案

的流反馈,其中方案沿着梯度持续更新。总流速示于曲线e,电导率示于曲线f,并且pH示于曲线g。

[0220] 参考图4,顶部图显示使用20 mM柠檬酸盐(pH 3.5),不同参数的变化,并且通过在总流速385、600和385 L/h(曲线e)的步骤中,对于碱(曲线a)和酸(曲线b)的流反馈与恒定缓冲液浓度的限制组合。曲线f为电导率,而曲线g为pH。

[0221] 底部图显示用20 mM柠檬酸盐(pH 3.5-5.9)和流速500L/h,使用pH和电导率反馈,施用pH梯度。

[0222] 本发明不局限于上述优选的实施方案。可使用各种备选、修改和等价物。因此,以上实施方案不应视为限制本发明的范围,本发明的范围由所附权利要求书限定。

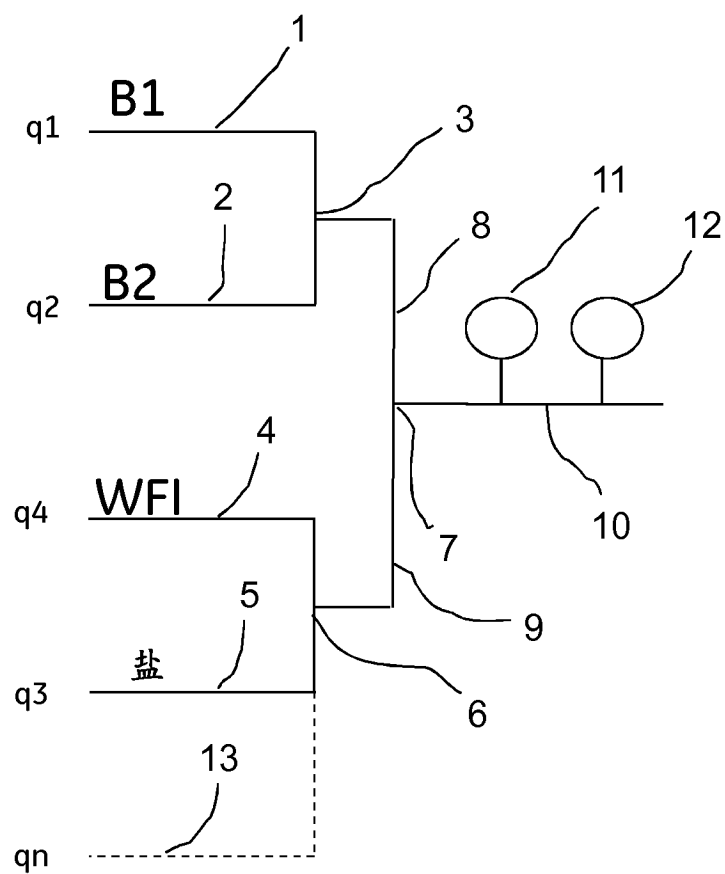


图 1

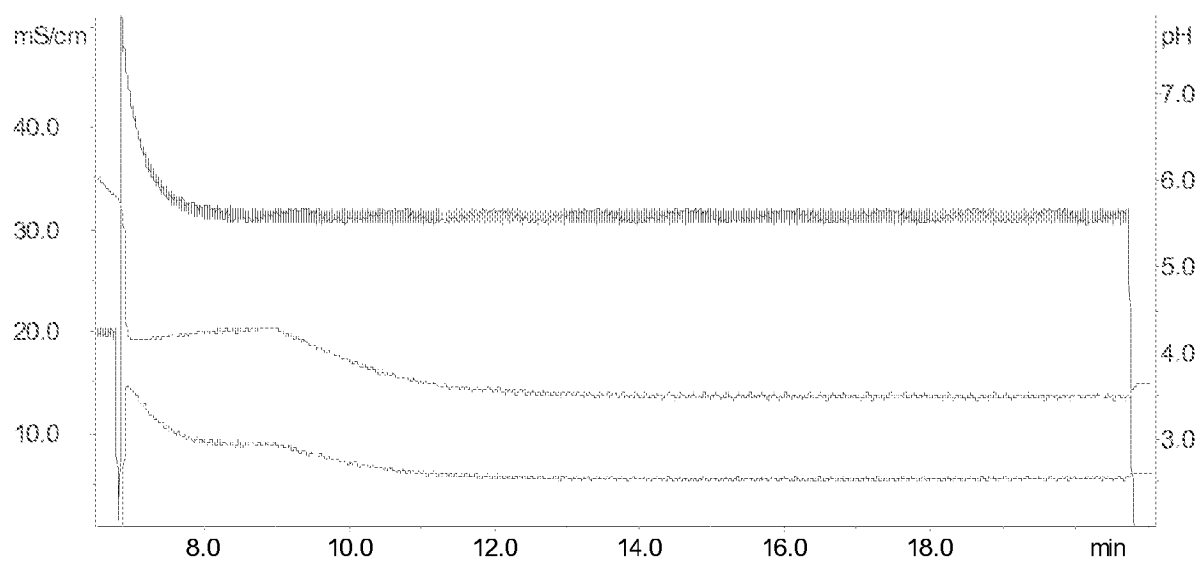


图 2

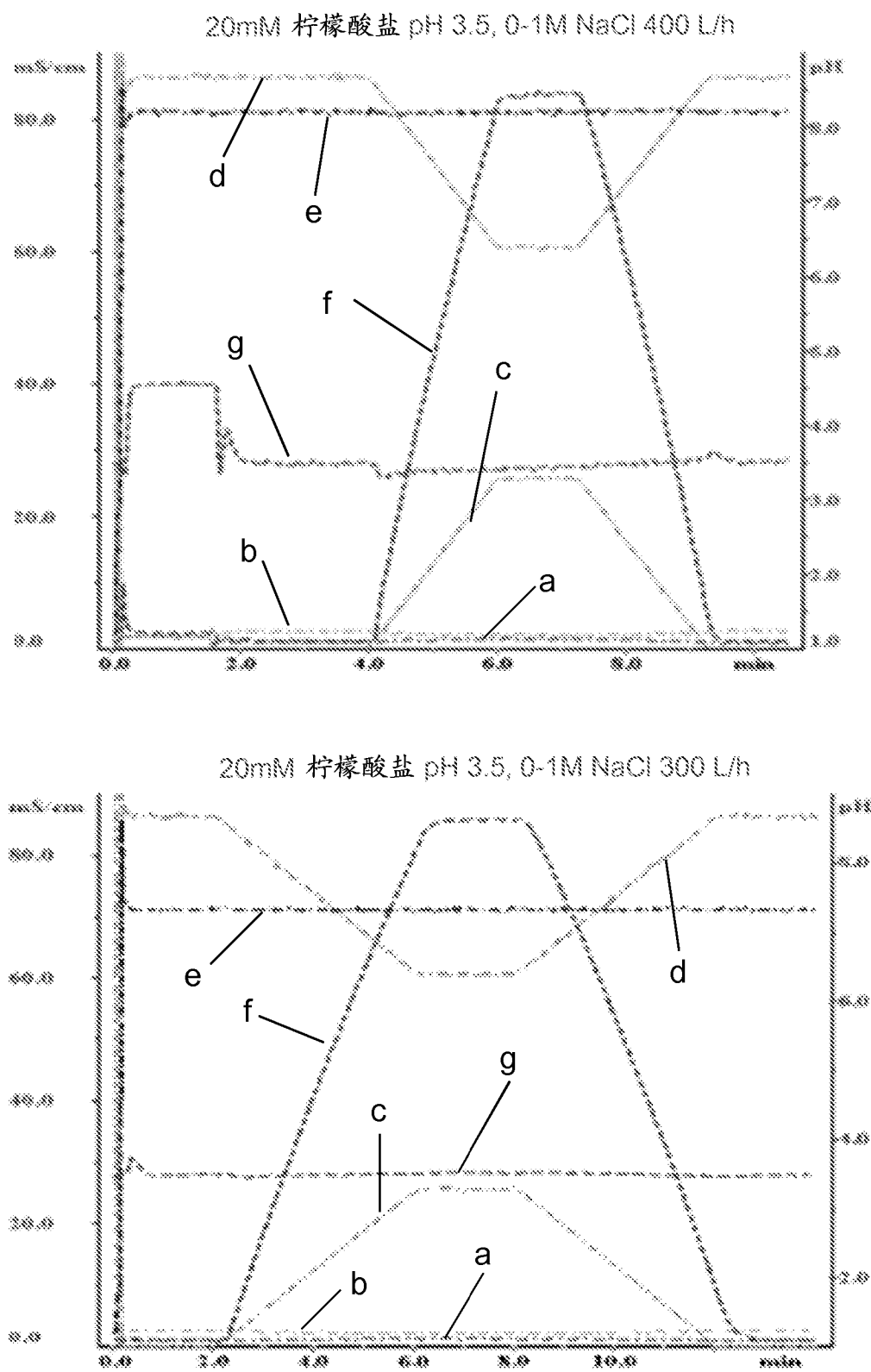
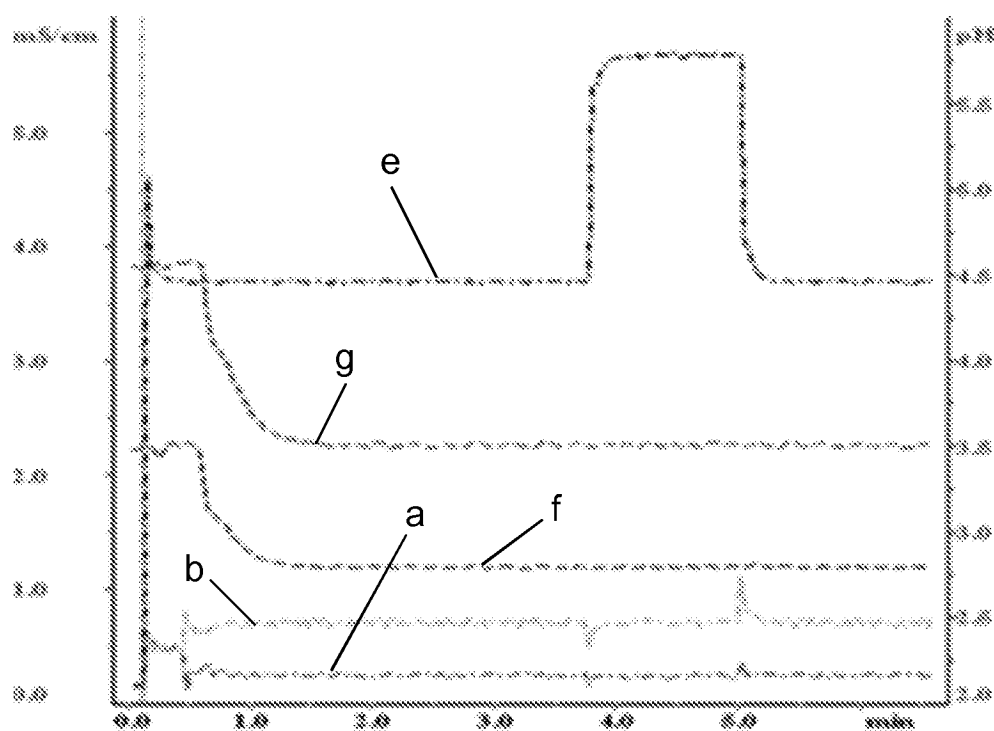


图 3

20mM 柠檬酸盐 pH 3.5 385, 600, 385 L/h



20mM 柠檬酸盐 pH 3.5-5.9 500 L/h

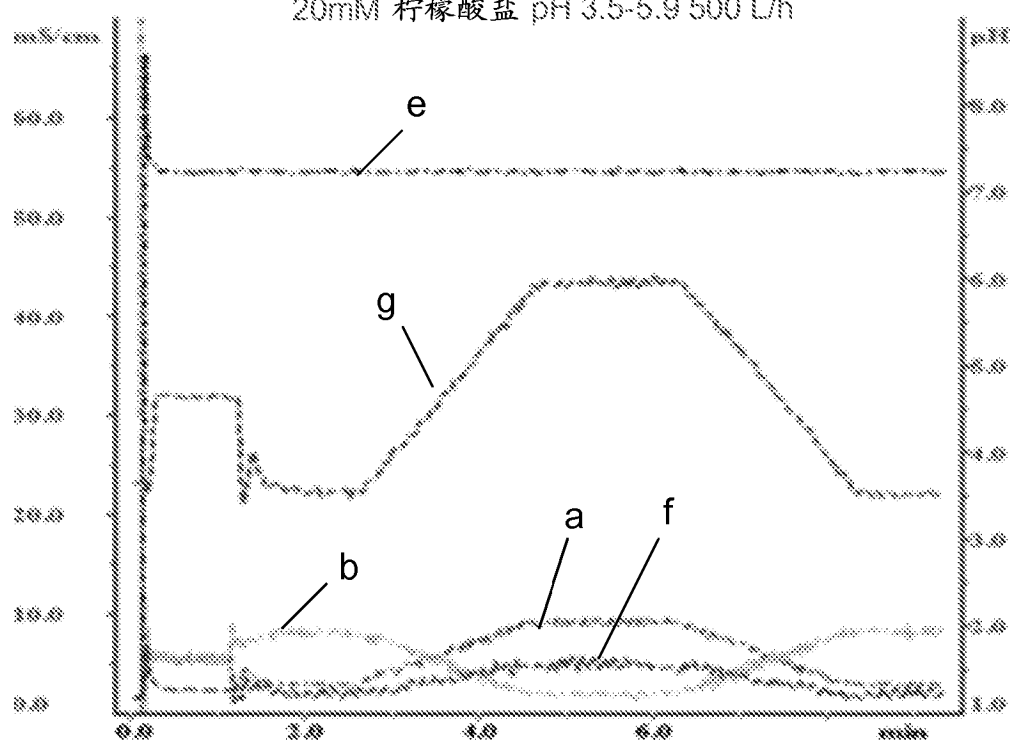


图 4